

## ОТЗЫВ

на диссертацию Тыняной Ирины Ивановны

**«Разделение, концентрирование и анализ антоцианов и бетацианинов в экстрактах растительного сырья с применением оптических и хроматографических методов»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук  
по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Исследование натуральных красителей - одна из основных тенденций пищевого производства во всем мире. Антоцианы и бетацианины относятся к числу важнейших водорастворимых окрашенных натуральных антиоксидантов, что обуславливает возможность их использования как красителей для пищевой промышленности, так и в качестве лекарственных субстанций.

Разработка стратегии пробоподготовки сложных объектов природного происхождения с извлечением антоцианов и бетацианинов, оптимизации условий их ВЭЖХ разделения с целью идентификации и количественного анализа остается крайне **актуальной** задачей, поставленной и успешно решаемой в диссертационном исследовании Тыняной Ирины Ивановны.

Обзор литературы посвящен вопросам строения, свойствам, природным источникам, антиоксидантной активности антоцианов и бетацианинов, а также физико-химическим методам их определения.

В серии предварительных экспериментов диссертанту пришлось учесть, что спектрофотометрическое определение антоцианов осложнено существованием целого ряда соединений с различным строением. Для каждого мономерного антоциана существует несколько форм в зависимости от pH среды, и лишь флавилиевая форма является окрашенной. При этом переход между всеми формами антоцианов происходит не мгновенно. Значительный вклад в суммарный электронный спектр вносят и полимерные антоцианы.

Показано, что анализируемые образцы не должны содержать органические растворители, присутствие которых может привести к смещению максимуму абсорбции. Одним из основных источников ошибок в количественном анализе бетацианинов является их недостаточная стабильность, которая заметно ниже, чем в случае антоцианов. Публикации

по стабильности бетацианинов весьма малочисленны, а порой и недостаточно информативны. Возникли проблемы и с идентификацией бетацианинов и антоцианов при их одновременном присутствии. Необходимо было сформировать серию специальных экспериментов для решения этих задач.

Качественный и количественный состав экстрактов антоцианов и бетацианинов определяли методами спектрофотометрии, обращенно-фазовой (ОФ) и гидрофильной хроматографии с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием. Для уточнения результатов анализа ОФ ВЭЖХ был использован горизонтальный электрофорез. Диссертантом предложены модели, позволяющие прогнозировать разделение компонентов сложных смесей антоцианов и бетацианинов и апробированы варианты разделения бетацианинов методом ОФ ВЭЖХ на различных обращенно-фазовых сорбентах.

Важной частью диссертационной работы явилось проведенное сопоставление селективности разделения антоцианов в условиях ОФ ВЭЖХ в исследуемых элюирующих системах методом относительного анализа удерживания, что позволило предварительно оценить структуры углеводных фрагментов. Показано, что удерживание возрастает в ряду моно-, ди- и три-гликозиды. Это соответствует увеличению числа гидроксильных групп во флавилиевом ионе.

Таким образом, автор диссертационной работы существенно расширяет аналитические возможности хроматографического метода.

Большой объем экспериментальных исследований потребовался при разработке регламента пробоподготовки. Отработана процедура сорбционного концентрирования аналитов на обращенно-фазовых сорбентах и бентонитовых глинах. Диссертантом предложен способ приготовления готовых форм на основе бетацианинов с использованием лиофильной сушки. Показано, что стабильность бетацианинов в сухих формах существенно выше, чем в жидких концентратах. Установлено, что для воспроизводимого элюирования производных бетацианидинов необходимы подвижные фазы с низким значением рН.

#### **Научная новизна.**

В диссертационной работе предложен спектрофотометрический способ определения антоцианов, учитывающий взаимопревращение флавилиевой формы и псевдооснования, а также влияние природы органического растворителя на положение максимума абсорбции и коэффициент экстинкции.

Выявлены закономерности хроматографического поведения антоцианов и



бетацианинов в условиях ОФ ВЭЖХ и для антоцианов предложен механизм удерживания этих аналитов. Предложены способы группового анализа антоцианов по числу ОН-групп в структуре флавилиевого иона и определения типа гликозилирования по параметрам относительного удерживания на картах разделения.

Предложен спектрофотометрический способ совместного определения бетацианинов и бетаксантинов, а также получена новая информация по хроматографическому поведению гликозидов цианидина и бетацианинов методом гидрофильной хроматографии на диольной стационарной фазе.

### **Практическая значимость**

Предложено получение сухих готовых форм антоцианов и бетацианинов методом лиофильной сушки, которые могут быть востребованы в качестве компонентов в кулинарии.

Показано, что использование экстрактов, содержащих высокую концентрацию органических модификаторов, приводит к завышению результатов (до 4 %).

Установлено, что в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ контроль карт разделения антоцианов позволяет дифференцировать однотипные антоцианы по числу гидроксильных групп во флавилиевом ионе и определять характер гликозилирования по углу наклона линии тренда в элюирующих системах, содержащих воду и ацетонитрил, подкисленных муравьиной или фосфорной кислотами.

Разработанные способы спектрофотометрического и хроматографического определения антоцианов и бетацианинов могут быть использованы при создании промышленных технологий получения натуральных красителей на основе антоцианов и бетацианинов.

По работе возникли замечания и вопросы.

1. Хотелось бы получить более основательную аргументацию необходимости введения «поплавочного» механизма. Чем он информативнее уже имеющихся многочисленных моделей удерживания аналитов в ОФ ВЭЖХ?
2. В названии работы есть указание на *концентрирование*. В каких экспериментах это нашло отражение? Проводилась ли количественная оценка концентрирования?
3. 4-ое положение, выносимое на защиту, носит скорее декларативный характер.

Остается неясным, какие важные преимущества гидрофильной хроматографии по сравнению с ОФ ВЭЖХ защищает диссертант.

4. На стр. 63. отмечается *...По нашим данным равновесие устанавливается очень быстро*. Где эти данные и как они были получены?
5. Встречается ряд неудачных выражений: *... качественная идентификация компонентов* (стр.31); *...качественная хроматограмма* (стр.105); *«...рост затаянутости тыла...»* (стр.106) ; *...вынос аналитов растворителем пробы* (стр.116); не совсем удачные подзаголовки в оглавлении: *запись электронных спектров; запись масс-спектров; ... очистка антоцианов хорошо исследована, но обширной информации не найдено* (стр. 75); обсуждаемая *«эффективность разделения»* является на самом деле *«селективностью разделения»*.
6. Есть замечания оформительского характера: представленные хроматограммы не содержат указания на используемые условия; в подписи к рис.7 (автореферат) не отмечено, какие результаты соответствуют муравьиной, а какие фосфорной кислоте; в формуле IV (стр. 26) — опечатка;  $\Delta 1/2$  — не полуширина пика (стр.46), а ширина пика на половине высоты

Высказанные замечания не отразились на самом благоприятном впечатлении от диссертационной работы. Выполнено красивое, добротное исследование, имеющее бесспорную **практическую значимость и научную новизну**.

Представленный материал диссертации полно отражен в автореферате. По теме диссертационной работы опубликовано 9 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования научных трудов, 1 из них в зарубежном издании базы Scopus и 5 тезисов и материалов конференций, а также 1 патент РФ.

Результаты работы могут быть использованы для внедрения на химическом факультете в Санкт-Петербургском государственном технологическом институте (Техническом университете), Иркутском и Новосибирском государственных университетах. Теоретические положения работы могут быть включены в курсы лекций по аналитической химии и физико-химическим методам анализа на химических факультетах университетов и магистерские программы по аналитической химии.



Диссертация Тыняной Ирины Ивановны «Разделение, концентрирование и анализ антоцианов и бетацианинов в экстрактах растительного сырья с применением оптических и хроматографических методов», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 — аналитическая химия, является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий.

По актуальности решаемой задачи, **научной новизне** полученных результатов, **практической значимости** и объёму выполненных исследований диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Тыняная Ирина Ивановна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 — Аналитическая химия.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Институт химии СПбГУ

Доктор химических наук, профессор

Людмила Алексеевна Карцова

Почтовый адрес: 198504, Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский проспект 26.

Телефон: 8(812)-428-40-44

Электронная почта: kartsova@gmail.com

*Лишнее корректура завершено.  
Документ подготовлен в виде рамок  
исполнением Трусовых образцов.  
Текст документа размещен в открытом  
доступе на сайте СПбГУ по адресу:  
[www.spbgu.ru/science/expert.html](http://www.spbgu.ru/science/expert.html).*



*Людмила И. И.*

*Лишнее корректура завершено*

*19.02.2016*